

## Néhány fungicid hatása a *Rhizobium leguminosarum* sp.-re I. Laboratóriumi vizsgálatok

KECSKÉS MIHÁLY és J. M. VINCENT

*MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest,  
Sydney-i Egyetem Mezőgazdasági Mikrobiológiai Laboratoriuma,  
Sydney (Ausztrália)*

A mezőgazdasági gyakorlatban a peszticidek közül az inszekticidek után a fungicideket alkalmazzák a legnagyobb százalékban. A hüvelyes növények magvait (a rhizobiummal való magoltás előtt) egyre kiterjedtebben csávázzák fungicidekkel. Ezért e két művelet összeférhetőségének vizsgálata elengedhetetlenül szükséges. A peszticidek rhizobiumokra gyakorolt hatása — a magkezelés és rhizobiumoltás mindinkább elkerülhetetlenné váló együttes alkalmazása miatt is — legközvetlenebbül és leginkább a magcsávázásra felhasznált fungicidek esetében mérhető le.

A fungicidek magkezelésre való felhasználásával egyidejűleg a rhizobiumokra gyakorolt hatásuk tanulmányozása is kezdetét vette.

MÜLLER és STAPP [15] foglalkoztak elsőként a fungicidek rhizobium baktériumokra gyakorolt hatásának laboratóriumi vizsgálatával.

APPLEMAN [1] a Cuprocide-ről és Spergon-ról már a negyvenes évek elején megállapította, hogy azok gátolják a borsó rhizobiumok növekedését.

BURTON és ERDMAN [3], valamint ERDMAN [5] Spergont 0,1–0,6% koncentrációban adagoltak a folyékony táptalajhoz, amelyet rhizobium szuszpenzióval oltottak be. Úgy találták, hogy ez a fungicid 90%-ban gátolta a *Rh. leguminosarum* növekedését; 0,2–2,0%-ban alkalmazva pedig 98%-os öléhatást fejtett ki.

MCNEW [12], MCNEW és HOFER [13] azt tapasztalták, hogy a Semesan és a 2%-os Ceresan erős gátlóhatást fejtett ki a borsó rhizobiumokra, ezzel ellentétben a Spergon csak kevésbé gátolta e baktériumok növekedését.

MILTHORPE [14] folyékony tenyészetben és agar blokk módszerrel vizsgálva a fungicidek borsó rhizobiumokra gyakorolt hatását a következő csökkenő sorrendet állapította meg: Ceresan, Cuprox, Chloranil.

RUHLOFF és BURTON [16] által vizsgált fungicidek közül az Arasan és az Arasan F fejtették ki a legnagyobb gátlóhatást a *Rh. leguminosarum* törzsekre.

HOFER [8] szerint a Ceresan, Phygon és Spergon volt a gátlóhatás sorrendje a lucerna, szarvaskerep és lóhere rhizobiumaival végzett fungicid érzékenységi vizsgálatokban.

BRACKEL [2] megállapította, hogy az 50% Tiuram-tetra-metil-diszulfid toxikus a borsó rhizobiumokkal szemben. Az egyes törzsek különböző szenzitivitást mutattak.

LATCH és GWEENWOOD [11] azt tapasztalták, hogy az általuk tanulmányozott 7 fungicid közül a lucerna rhizobiummal szemben a legtoxikusabbnak a Ceresan, majd a Captan és a Dichlone mutatkozott. A Thiram kezelés a

magra oltott rhizobium sejtekre, a kontrollhoz hasonlóan, letális hatást nem fejtett ki.

JAKUBISIAK és GOLEBIEWSKA [9], GOLEBIEWSKA [6] valamint GOLEBIEWSKA és KASZUBIAK [7] azt állapították meg, hogy a szerves higany preparátumok (Ceresan, Fungitox OR, Fenil-higany-acetát) jobban gátolták a különböző rhizobium fajokhoz tartozó törzsek fejlődését, mint a Thiuram készítmények (Thiuram, Fungitox T). JAKUBISIAK és GOLEBIEWSKA [9] azt észlelték, hogy a *Rh. lupini* sokkal érzékenyebb az előbbi fungiciddekekkel szemben, mint a *Rh. meliloti* és *trifolii*. GOLEBIEWSKA és KASZUBIAK [7] szerint a rhizobiumok Thiuram és Fenil-higany-acetát-tal szembeni rezisztenciája a törzsekre és nem pedig fajokra jellemző.

A mezőgazdaság szükségszerű követelménye, valamint az ide vonatkozó, viszonylag csekély számú laboratóriumi vizsgálattal foglalkozó irodalmi közlemény ellentmondó és sokszor hiányos adatai miatt tűztük ki célul a fungicidok rhizobiumokra gyakorolt hatásának I. laboratóriumi, II. üvegházi és III. szabadföldi feltételek közötti tanulmányozását, amelynek során a kapott eredmények mellett, alkalmunk nyíltott módszertani következtetéseket is levonni.

### Anyag és módszer

Az 1. táblázat annak a *Rhizobium leguminosarum* sp.-hez tartozó 7 törzsnek az adatait tartalmazza, amelyekre a 2. táblázatban felsorolt 7 fungicid hatását tanulmányoztuk.

Mind a hét törzs virulens és effektív, tehát szimbiózisra képes volt. A 3. (SU 498) és 4. (SU 499) számmal jelölt törzseket az ausztráliai mezőgazdasági gyakorlatban a *Rh. leguminosarum* fajhoz tartozó törzsekkel gumótképző és N-t kötő hüvelyes növények (*Latyrus*, *Pisum*, *Vicia*, és *Lens* nemzetségek) ún. „száraz” módszerrel történő magoltására is felhasználták, mint Nitragin (tőzeget) oltóanyagot.

A rhizobium törzseket élesztőkivonat-mannit-agaron (YMA) tenyésztettük ( $K_2HPO_4$  0,5 g,  $MgSO_4 \cdot H_2O$  0,2 g, NaCl 0,1 g, mannit 10 g, élesztőkivonat 0,4 g, agar 15 g, deszt. víz 1000 ml). Alaptáptalajként ugyancsak ezt a táptalajt alkalmaztuk a különböző kísérletsorozatokban is.

Az összehasonlító fungicid-érzékenységi vizsgálatok céljára felhasznált gyökérrothadást okozó *Thanethephorus cucumeris* mikroszkopikus gombát 1/4 erősségű burgonya-dextróz-agaron (PDA) tartottuk fent. (Burgonya 50 g, dextróz 5 g, agar 20 g, deszt. víz 1000 ml.).

Magvizsgálatokra a *Vicia sativa* Golden Tares változatának magjait (csírázóképesége 99%) alkalmaztuk. A fungicid magkezelések és a kezelt magvak raktározása, stb. a fungicideket előállító cégek használati utasításai szerint történt (Panogen 1,4 g, Phygon 1,2 g, Ceresan, Cuprox, Thiram, Captan és Spergon 2,0 g/l kg válogatott mag).

A szűrőpapírkorong módszerhez WHATMAN N° 1 szűrőpapírból kivágott 20 m/m átmérőjű steril korongokat használtunk, amelyekre — steril deszt. vízzel történt átnedvesítés után — vittük rá a kívánt por alakú fungicid mennyiségeket. A por alakú anyagokon (Co, Ce, T, C, Py, Sp) kívül a folyékony Panogen és a por alakú anyagok  $10-10^7$ -es hígításainak szuszpenziói esetében 24 órán át való áztatással juttattuk a különböző ágenseket a korongokra. Az ily módon átitatott korongokat 26 °C-on szárítottuk ki. A gátlási zónákat mm-ben mértük.

## 1. táblázat

Baktérium törzsek  
(*Rhizobium leguminosarum* species)\*

(1) Labora- tóriumi jelzés	(2) A törzs száma a Sydney Uni- versity Gyűjte- ményben	(3) Izolálási és származási hely			
		Intézmény	Ország	Kontinens	Növény
1	SU 331	University of Sydney	N. S. W.	Ausztrália	<i>Vicia faba</i> L.
2	SU 302	University of Sydney	N. S. W.	Ausztrália	<i>Vicia atropurpurea</i> Desf.
3	SU 498	(SU 364/64)	Észak- Írország	Európa	<i>Pisum sativum</i> L.
4	SU 499	Nitragin 175 G <sub>11</sub> /SU 391/64	—	Amerika	—
5	SU 500	Nitragin 175 G <sub>9</sub> /SU 390/64	—	Amerika	—
6	SU 567	Department of Agriculture (TA 101)	Tazmánia	Ausztrália	—
7	SU 569	Department of Agriculture (TA 102)	Tazmánia	Ausztrália	—

\* Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1957) szerint.

Valamennyi törzs a *Lathyrus*, *Pisum*, *Vicia* és *Lens* genuszhoz tartozó növényfajok gyökerén gumót képez és azokkal szimbiózisban N-t köt.

A 24 órás telített fungicid oldatokat is hasonlóképpen juttattuk a szűrő-papír korongokra.

Némi módosítással az antibiotikum teszteknel használt OTTE és KÖHLER által javasolt lemez-módszert is kipróbáltuk, KECSKÉS és MANNINGER [10].

A fungicidekkel kezelt és tözeges oltóanyaggal oltott bükkönymagvak felszínén életben maradó rhizobium sejtek számának meghatározására a kongó-vörös-agar-lemez módszert használtuk, DATE és VINCENT [4].

Folyékony táptalajokhoz (27 vagy 29,5 ml YM) a hígításoknak megfelelő mennyiségű fungicid port vagy 3 ml-nyi fungicid szuszpenzió hígítást adagoltunk, amelyeket 200 ml-es Erlenmeyer lombikokban 26 C°-on történő lassú rázatással 120 órán át inkubáltunk. A baktérium növekedését turbidimetrikusan mértük.

24 órás desztillált vizes szaturált fungicid oldatokat szintén alkalmaztunk táptalajként, oly módon, hogy a YM folyékony táptalaj víz komponensét ezekkel az oldatokkal helyettesítettük (szűréssel sterilizálva azokat). A folyékony és szilárd — termosztátban „szárított” — táptalajokat 0,8–0,9 optikai denzitású 0,5 ml-nyi fiatal (24–48 órás) baktérium szuszpenzióval oltottuk be (a lemezek felületén a szuszpenziót steril üvegbottal kentük szét egyenletesen). Az eredményeket — ha a táblázatokban más adat nincs feltüntetve — 26 C°-on történő 96 órás tenyésztés után jegyeztük fel.

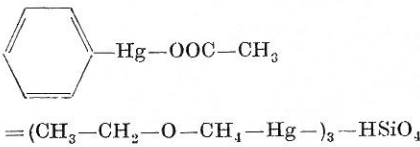
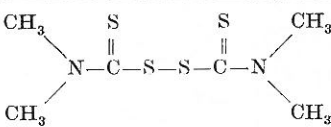
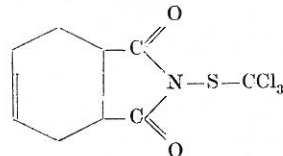
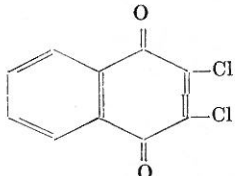
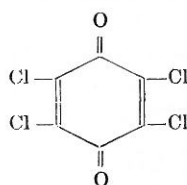
Általában kettős ismétléseket alkalmaztunk, kivéve a fungicidekkel kezelt magvak vizsgálati sorát (3. és 5. táblázat), ahol 10 párhuzamos alkalmazását láttuk célszerűnek.

2. tábl  
F u n g i

(1) Fungicid csoportok és laboratóriumi jelzésük	(2) Gyári elnevezés	(3) Kémiai elnevezés és az aktív hatóanyag súly %
a) Rézvegyület (szervetlen)	Co	Cuprox Réz—oxi—klorid 50% rézzel equivalens
b) Higan- vegyületek (szerves)	P	2.2% Metil—merkuri—dicianamide 1.5% higannyal equivalens
	Ce	2.3% fenil—merkuri—acetát 0.4% etoxi—etil—merkuri—szilikát 1.5% higanytartalom
c) Karbamát (szerves)	T	Thiram 80% Tetra—metil—tiuram—diszulfid
d) Ftál—imid (szerves)	C	Captan 50% N—Trikolór—metiltio—4 cinklohexén— —1,2 dikarbomixid
e) Kionok (szerves)	Py	Phygon 50% 2,3,—Diklór—1,4—naftokinon
	Sp	Spergon 96% 2,3, 5,6—Tetraklór— —1,4—benzo—kinon

lúzat

cidek

(4) Szerkezeti képlet	(5) Vízoldhatóság	(6) Eredete
$\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	oldhatatlan	Agserv; Research Divison of Agserv Industries PTY. LTD. Pendle Hill N. S. W.
$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \parallel \\ \text{CH}-\text{Hg}-\text{NH}-\text{C}-\text{NH}-\text{CH} \end{array}$	oldható	Trade mark of A/B casco, Stockholm, Sweden Distributed by Lanes PTY. LTD. Northam Park Bankstown, N. S. W. Australia
	gyakorlatilag oldhatatlan	Imperial Chemical Industries of Australia New Zeland LTD. Melbourne, Australia
	gyakorlatilag oldhatatlan	Agserv; Research Divison of Agserv Industries PTY. LTD. Pendle Hill N. S. W.
	gyakorlatilag oldhatatlan	Agserv; Research Divison of Agserv Industries PTY. LTD. Pendle Hill N. S. W.
	majdnem oldhatatlan (1 : 106)	Lanes PTY. LTD. Northam Park Bankstown N. S. W. Australia
	majdnem oldhatatlan (1 : 4000)	Lanes PTY. LTD. Northam Park Bankstown N. S. W. Australia U. S. Patent N° 2.349. 771

## Eredmények, következtetések

Előzetes tájékozódásképpen fungicidekkel kezelt bükkönymagvaknak a *Rh. leguminosarum* 7 törzsére kifejtett hatását tanulmányoztuk (kb. 980 teszt; 3. táblázat). Amint a táblázatból kitűnik, a Hg-tartalmú szerves fungicideknek a vizsgált rhizobium törzsekre kifejtett és az egyszerűsítés kedvéért a 3. táblázatban összegzett gátló hatása markánsan szembeszökő. E hatás szempontjából középhelyet elfoglaló Cuproxot, Thiramot és Captant a Spergon, majd a Phygon követi.

3. táblázat

Fungicidekkel kezelt bükkönymagvaknak a *Rhizobium leguminosarum* 7 törzsére kifejtett gátló zóna értékei (mm-ben) agarlemezen az idő függvényében

(1) Magvak	(2) Fungicidek						
	P	Ce	Co	T	O	Py	Sp
1 hónappal a kezelés után	24,8	14,9	9	9,4 8,0	9,7 7,9	2,7	4,2
7 hónappal a kezelés után	11,8	14,3	11,1	9,5 8,9	8,7	2,0	4,4
Gátlási zónák középértéke (fungicidek szerint)	18,3	14,6	10,0	9,5 8,5	9,23 7,9	2,4	4,3

A számadatok a 7 törzsnél 10–10 kezelt maggal kiváltott gátlási zónák átlagértékei. Thiram-nál (1,4 mm) és Captan-nál (1,8 mm) enyhe gátlást figyelhetünk meg.

A 3. táblázatból az is látható, hogy a fungicidekkel kezelt magvaknak állás közben általában nem változott a baktericid képessége, kivéve a Panogént, amelynek hatóképessége — 7 hónapos tárolás után — mintegy felére csökkent.

Ezt igazolja a következő vizsgálat is, melynek során a Panogén hatás-csökkenését különböző feltételek között és részletesebben tanulmányoztuk.

A bükkönymagvak Panogénnel való kezelése után eltelt idő	Tárolási feltételek	Gátlási zóna (mm-ben)
0 óra	—	48
2 hét	sötétben	35
2 hét	diffúz napfényben	29
2 hét	fluoreszkáló fényben	28
40 hét	sötétben	11

A diffúz napfényben és fluoreszkáló fényben tárolt magvak közötti különbség kivételével valamennyi különbség szignifikáns.

Meg kell jegyeznünk azt, hogy az azonos fungiciddal kezelt 10 mag egy-egy rhizobium törzsre gyakorolt gátló zóna méreteit figyelembe véve szórást tapasztaltunk, ami abból adódott, hogy a magvak és az agar lemez érint-

kezési felülete esetenként különböző volt. Tapasztalataink szerint a fungicideket „feleslegben” tartalmazó szűrőpapírkorongok bizonyultak a csávázott magvak leginkább reprodukálható utánszátainak (4. táblázat).

Amint a 4. táblázat, valamint az ezt követő többi táblázat is bizonyítja, a vizsgált fungicidek közül egy-egy fungicid 7 törzsre kifejtett hatásait illetően — egy-két elhanyagolható kivételtől eltekintve — a szignifikáns különbség nem állapítható meg, mert a törzsek egyöntetűen viselkedtek. A fungicidek csökkenő hatékonysági sorrendje megegyezik a 3. táblázatban közöltekkel, csak a Phygon és Spergon esetében cserélődött a sorrend. Némely esetben csak enyhe gátlást (gyér baktérium növekedést) vagy éppen kismértékű serkentést tapasztalhattunk (lásd 3. és 4. táblázatok megjegyzését.).

4. táblázat

Szűrőpapírkorongra feleslegben felvitt fungicidek gátlási zónái agar lemezen (mm-ben)

(1) Baktérium törzsek	(2) Fungicidek							(3) Gátlási zónák közéértéke (törzsek szerint)
	P	Ce	Co	T	O	Py	Sp	
1.	>90	48	42	29	31	25	23	41,2
2.	>90	49	46	32	32	27	25	43
3.	>90	52	46	35	37	27	20	43,9
4.	>90	51	38	35	30	27	20	41,6
5.	>90	52	48	28	29	28	20	42,1
6.	>90	51	42	30	32	29	23	42,4
7.	>90	54	64	35	30	27	24	46,3
a) Gátlási zónák közéértéke (fungicidek szerint)	90	51	46,5	36,7	31,5	27,1	22,1	42,9 43,6

Megjegyzés: a Captan(C) a 4. sz. törzset a gátlási zónától +2 mm-ig serkentette  
a Thiram(T) a 2. sz. törzset a gátlási zónától +12 mm-ig enyhén gátolta  
a Thiram(T) az 5. sz. törzset a gátlási zónán belül 9 mm-en csak enyhén gátolta  
a Thiram(T) a 6. sz. törzset a gátlási zónán belül 12 mm-en csak enyhén gátolta

A szűrőpapírkorongon levő „feleslegben” alkalmazott fungicid mennyiség mindig > 0,2 g volt. Előzetes vizsgálataink szerint, — mely megegyezik RUHLOFF és BURTON [16] korábbi adataival — ugyanis a korongokra vitt különböző fungicid mennyiségek alkalmazásakor a rhizobiumokra gyakorolt hatás szempontjából (egy igen csekély mennyiség küszöbértéke felett) különbséget nem találtunk.

A fungicidekre vonatkozó 4. táblázatban közölt nagy és állandó hatás-különbségeket az 5. táblázat eredményei még inkább megerősítik: a szerves higanytartalmú fungicidek közül a Panogén bizonyult a rhizobiumokra nézve a legtoxikusabbnak, ezt a Ceresan követte, a szervesetlen Cuprox, a ditiokarbamátokhoz tartozó Thiram és a fenoxi-vajsavak közé sorolt Captan, itt is a közepesen ható fungicid csoportban foglaltak helyet. A legkevésbé hatékonyak a kinonok, sorrendben a Phygon és a Spergon voltak és ez a megállapítás az alkalmazott szuszpenzió-hígítás nagyságrendjéből is jól kitűnik



Hangsúlyoznunk kell, hogy ezt a csökkenő hatékonysági sorrendet kaptuk a *Thanetophorus cucumeris*-szel végzett vizsgálatokban is, azzal a különbséggel, hogy a Cuprox bizonyult e patogén gombával szemben a legkevésbé toxikusnak (5. táblázat).

Ha a rhizobiumoknak és a *Thanetophorus cucumeris*-nek a fungicidek által kiváltott toxicitási arányszámait (gátlózána különbségek) nézzük az 5. táblázatban, akkor kitűnik, hogy a Cuprox-szal ellentétben a Ceresan és Thiram viszonylag kevésbé toxikus a rhizobiumokkal szemben, mint a patogénnel szemben.

5. táblázat

**A *Rhizobium leguminosarum* 3. sz. törzse és az 1—7 törzs valamint a *Thanetophorus cucumeris* fungicid szuszpenzió-hígításokat tartalmazó szűrőpapírkorongokkal kapott gátló zónáinak összehasonlító adatai (mm-ben)**

(1) Mikroorganizmusok	(2) Ismétlések száma	(3) Fungicidek							(4) Középértékek (mikroorganizmusok szerint)
		P	Ce	Co	T	C	Py	Sp	
<i>Rhizobium leguminosarum</i> 3. sz. törzse	10	110,0	43,3	29,8	30,5	26,8	22,0	21,3	40,5
<i>Thanetophorus cucumeris</i>	10	152,5	117,7	35,5	86,9	53,1	46,2	30,7	73,8
a) Különbség		42,5	68,4	5,7	56,4	26,3	24,2	9,4	33,3
<i>Rhizobium</i> törzsek 1—7.	2	88,4	43,2	30,5	34,3	28,0	22,7	22,1	38,5
<i>Thanetophorus cucumeris</i>	2	149,0	114,0	27,5	88,0	51,0	44,5	35,0	72,7
a) Különbség		60,6	70,8	—3,0!	53,7	23,0	21,8	12,9	34,2

Py, Sp: tízszeres szuszpenzió hígítást tartalmazó korongok

P, Ce, Co, T, C: százszoros szuszpenzió hígítást tartalmazó korongok

A poralakú fungicidek (a folyékony Panogen kivételével) „telített” oldataiba itatott és a fungicideket „feleslegben” tartalmazó szárított szűrőpapírkorongok hatásának vizsgálata során csak a Ceresan és a Cuprox fejtett ki gátló hatást. A Ceresan toxikus hatása is csak 1/100 telítettségnél volt kimutatható. Ha a folyékony táptalaj (YM) vízkomponensét helyettesítjük szaturált oldatokkal, szintén csak az előbbi két anyag (és természetesen a Panogén oldat) akadályozta a rhizobium sejtek fejlődését. A Phygon hét rhizobium törzs közül négynek a növekedését késleltette.

Bükköny növényvel agarban, kvarchomokban és talajban gumóképzés vizsgálatára szolgáló növénykísérleti sorozatokat is beállítottunk és a különböző fungicidekkel kezelt, valamint a tőzeges vívőanyagú rhizobium oltóanyaggal oltott magvak felületén az oltás után azonnal, majd 12, valamint 24 óra elteltével az életben levő rhizobium sejtek mennyiségét ellenőriztük. A 6. és 7. táblázatban két ilyen meghatározás eredményét mutatjuk be.

A rhizobium sejtek általában elég jól túléltek a Thiram kezeléseket, míg a Ceresan magkezelés hatására számuk jelentősen csökkent. A vizsgálatokba



6. táblázat  
 Az életképes rhizobium sejtek száma (ezekben) a fungicidekkel kezelt és tözeges oltóanyaggal oltott hükkönymagvak felületén

(1) Oltás utáni számolási idő	(2) Fungicidek							(3) Kontroll
	P	Ce	Co	T	C	Py	Sp	
0 óra	5,0	0,28	4,8	10	7,5	5,8	6,3	11,3
12 óra	5,3	0,20	6,3	7,5	7,3	6,5	4,8	8,5
24 óra	5,2	0,8	6,3	8,0	7,5	6	5,3	7,3
a) Középtértek (fungicidek szerint)	5,2	0,22	5,8	8,5	7,4	6,3	5,5	9,0

 7. táblázat  
 Az életképes rhizobium és az „összes” baktérium sejt száma a fungicidekkel kezelt és tözeges oltóanyaggal oltott hükkönymagvak felületén ( $10^3-10^4$  a hígításokat jelzi)

(1)  Oltás utáni számolási idő	(2) Fungicidek														Kontroll	
	P		Ce		Co		T		C		Py		Sp			
	Rh	„Ösz- szes”	Rh	„Ösz- szes”	Rh	„Ösz- szes”	Rh	„Ösz- szes”	Rh	„Ösz- szes”	Rh	„Ösz- szes”	Rh	„Ösz- szes”		
	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>		
0 óra	5,8	5,5	1,0	4,0	4,3	5,4	9,9	7,0	7,3	5,9	4,3	6,4	7,3	7,5	10,2	7,6
12 óra	5,6	5,0	0,7	2,1	2,3	4,1	7,8	6,7	4,5	5	4,5	4,1	4,0	6,1	11,0	6,6
24 óra	5,0	3,5	< 0,5	2,6	2,6	4,0	9,5	7,6	3,3	3,4	1,3	3,4	3,5	4,1	11,2	6,4
a) Középtértek (fungicidek szerint)	5,5		0,6		3,0		9,0		5,0		3,4		4,9		10,8	

„Öszes” = a hükkönymagvak felületén levő és a Kongó-vörös (VMA) táptalajon növekedni képes összes baktérium száma tízezrekben egy magra vonatkoztatva Rh = a rhizobium sejtek száma ezekben egy magra vonatkoztatva.

vont többi fungicid közepes hatásának mutatkozott, melyek között szignifikáns különbségeket nem állapíthattunk meg.

A 7. táblázatban „Összes” baktériumflóra (Kongóvíz és YMA táptalajon kifejlődött kolóniák) igen nagy számát határoztuk meg, a különböző fungicidekkel kezelt és tőzeges rhizobiummal oltott magvak felületén. Úgy itt, mint a 6. táblázatban kontrollként a fungicidekkel nem kezelt, de rhizobiummal oltott magvakat használtuk.

A Thiram kivételével (Spargon a szignifikációhoz közel!) valamennyi fungicid ágens csökkentette az életképes sejtek számát. A legtoxikusabb hatást itt is a Ceresan fejtette ki, bár ez nem volt olyan markáns, mint a rhizobiumok esetében. A többi anyag közepes hatásának mutatkozott, melyek között lényeges különbségeket most sem állapíthattunk meg.

Ez a megfigyelés vetette fel a lehetőségét a szabadföldi kísérletek tapasztalataiból fakadó, annak a hipotézisünknek, mely szerint a Thiram kedvező hatása — amellet, hogy a patogén gombákra nézve fungicid, és hogy a rhizobiumok növekedését kevésbé, vagy egyáltalán nem gátolja — abban is megnyilvánulhat, hogy a pillangósvirágú növények számára hasznos talajbaktériumokat (így a rizoszféra és esetleg a rizoplan természetes kialakulását!) sem gátolja.

Munkánkat Ausztráliában a University of Sydney Mikrobiológiai Intézetében végeztük. Köszönetünket fejezzük ki Miss Anne Walker laboratóriumi asszisztensnek a manuális munkában nyújtott szíves segítségért.

### Összefoglalás

Öt különböző kémiai csoportba tartozó 7 fungicid anyag különböző növényfajok gyökérgumóiból és különböző kontinensekről származó *Rhizobium leguminosarum* sp. 7 törzsére gyakorolt hatását tanulmányoztuk laboratóriumi feltételek között.

A vizsgált fungicidekkel szemben a *Rh. leguminosarum* sp. fajhoz tartozó törzsek egyöntetűen viselkedtek: egy adott fungicid 7 törzsre külön-külön kifejtett gátlóhatásait illetően szignifikáns különbségeket nem tapasztaltunk.

Módszertani szempontból a csávázott magvak leginkább reprodukálható utánpótlásának a fungicideket „feleslegben” tartalmazó szűrőpapírkorongok bizonyultak.

Megállapítottuk, hogy a két Hg-tartalmú fungicid (Panogen és Ceresan) a vizsgált rhizobiumokkal szemben igen nagy mértékben toxikus, ami a Ceresan-nál erős letális hatással is párosult. A Cuprox a rhizobium törzsekre kifejtett sajátosan kedvezőtlen toxikusságán kívül, mérsékelten gátló és pusztító hatásának bizonyult. A többi négy szerves fungicid (Thiram, Captan, Phygon és Spargon) — gátlókéességüket illetően — középhelyet foglalt el. Az adatokat összesítve a Thiramnak volt a legkisebb a toxicitási arányszáma és, ami a legfontosabb, az oltóanyagként alkalmazott rhizobiumokra nem fejtett ki letális hatást.

### Irodalom

- [1] APPLEMAN, M. D.: Effect of seed treatment on nodulation of soybeans and peas. *Soil Sci. Amer. Proc.* **6**. 200—203. 1941.
- [2] BRACKEL, J.: Action sur le Rhizobium de divers fungicides et insecticides commerciaux. *Ann. Inst. Pasteur*, **105**, (2) 143. 1963.
- [3] BURTON, J. C. & ERDMAN, L. W.: The compatibility of Spergon and Rhizobium leguminosarum on pea seeds. *J. Bacteriol.* **42**. 142—143. 1941.
- [4] DATE, R. A. & VINCENT, J. M.: Determination of the number of root nodule bacteria in the presence of other organisms. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* **2**, 5—7. 1962.
- [5] ERDMAN, L. W.: New developments in legume inoculation. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **8**. 213—216. 1944.
- [6] GOLEBIEWSKA, J.: The influence of fungicides on symbiosis of leguminous plants with bacteria. *Institut Uprawy, Nawezenia i Gleboznawstwa. Pamietnik Pulawski.* **18**. 367—382. 1965.
- [7] GOLEBIEWSKA, J. & KASZUBIAK, H.: Sensitivity of rhizobium to the action of Thiuram and Phenylmercuric acetate. *Ann. Inst. Pasteur Suppl.* **3**. 153—160. 1965.
- [8] HOFER, A. W.: Selective action of fungicides on rhizobium. *Soil Sci.* **86**. 282—286. 1958.
- [9] JAKUBISIAK, B. & GOLEBIEWSKA, J.: Influence of fungicides on Rhizobium. *Acta Microbiol. Polonica.* **12**. 196—202. 1963.
- [10] KECSKÉS, M. & MANNIGER, E.: Effect of antibiotics on the growth of rhizobia. *Can. J. Microbiol.* **8**. 157—159. 1962.
- [11] LATCH, G. M. & GREENWOOD, R. M.: The effect of fungicide dusts on Ascochyta imperfects and Rhizobium meliloti. *Rhizobium Newsletter.* **9**, (2) 146—147. 1964.
- [12] MCNEW, G. L.: Effect of seed treatment on the stand and yield of peas. *Canner*, 92, 6 pp. 56, 58, 60, 62; 92, 7 pp. 16, 18, 20. 1941 in the *Rev. Appl. Myc.* Vol. 20, 241. 1941.
- [13] MCNEW, G. L. & HOFER, A. W.: Should chemically treated pea seed be inoculated? *Canner*. 94 (N°19): 11—12, 24. 1942.
- [14] MILTHORPE, F. L.: The compatibility of protectant seed dusts with root nodule bacteria. *J. Aust. Inst. Agr. Sci.* **11**. 89—92. 1945.
- [15] MÜLLER, A. & STAPP, C.: Beiträge zur Biologie der Leguminösen Knöllchenbakterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. *Arb. Biol. Reichsanst. Land und Forstwissenschaften* **14**. 455—554. 1926.
- [16] RUHLOFF, M. & BURTON, J. I.: Compatibility of Rhizobia with seed protectants. *Soil Sci.* **72**. 283—290. 1951.

Érkezett: 1968. szeptember 18.

## The Effect of Some Fungicides on Rhizobium leguminosarum sp. I. Laboratory Investigations

M. KECSKÉS and J. M. VINCENT

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest  
and Department of Agrikultural Microbiology, University of Sydney, Sydney (Australia)

### Summary

The effect of six organic and one inorganic fungicides belonging to five different chemical groups was studied on seven strains of Rhizobium leguminosarum sp. The rhizobium strains were isolated from the root nodules of different legume plants originating from different continents. The investigations were carried out in laboratory conditions in the Microbiology Department of the University of Sydney, Australia.

It was established that the strains belonging to Rhizobium leguminosarum, behaved uniformly in contrast with the investigated fungicides: there were no differences individually. Filter paper discs carrying excess fungicides were substituted as more reproducible simulations of the treated seeds.

In this stage it could be concluded that the two mercurial fungicides were very toxic to the rhizobia and that in the case of Ceresan, this was associated with strong lethal

effects. Cuprox was moderately inhibitory and lethal, and revealed a particularly unfavourable relative toxicity with the rhizobia. Of the remaining organic fungicides which were intermediate in their inhibitory property, Thiram possessed the lowest toxicity ration towards the rhizobia and, most important, appeared to be relatively non lethal to the bacteria applied to the treated seed as inoculum. On these accounts it could be expected that Thiram would be the likely recommendable seed dust but the definite decision in this respect has to await the nodulation tests in the light room, glasshouse, and field.

*Table 1.* Fungicides (1) Fungicide groups and their laboratory marks: *a*) Copper compound (inorganic) *b*) Mercury compounds (organic) *c*) Carbamate (organic) *d*) Phthalimide (organic) *e*) Quinones (organic) (2) Trade names. (3) Chemical nomenclature and the active ingredient weight %. (4) Structural formula (5) Water solubility (6) Origin.

*Table 2.* Bacteria strains, (*Rhizobium leguminosarum* species, according to Bergey Manual of Determinative Bacteriology, 1957.) All strains form nodules on the roots of plants belonging to the *Lathyrus*, *Pisum*, *Vicia* and *Lens* genera and fix nitrogen symbiotically with them. (1) Laboratory marks. (2) The number of the strains in the Collection of the University of Sydney. (3) Place of origin and isolation.

*Table 3.* The inhibitory zone values (in %) of the vetch seeds treated with fungicides affecting the seven strains of *Rhizobium leguminosarum* on the agar plate as a function of time. The data are the mean values of the inhibitory zones of seven strains affecting each 10 treated seeds. In the case of Thiram (1.4 m/m) and Captan (1.8 m/m) slight inhibition zone was observed. (1) Seeds: *a*) one month after treatment, *b*) 7 months after treatment *c*) mean value. (2) Fungicides.

*Table 4.* The inhibitory zones of the fungicides added in excess on paper discs on agar plate (m/m). (1) Bacterium strains. (2) Fungicides. (3) The mean value of the inhibitory zones according to strains. *a*) according to fungicides

*Table 5.* Comparative data (in m/m) of the inhibitory zones of No. 3 and No. 1–7 strains of *Rhizobium leguminosarum* and *Thanetophorus cucumeris* obtained by paper discs soaked with fungicide suspension dilutions. (1) Microorganisms. (2) Number of replications. (3) Fungicides. Mean values according to microorganisms. *a*) difference. Remark: Py, Sp discs contained suspensions diluted ten times and P, Ce, Co, T, C: suspensions diluted hundred times.

*Table 6.* The number (in thousands) of viable rhizobia cells on the surface of vetch seeds treated with fungicides and inoculated with peat inocula. (1) Counting time after inoculation: *a*) mean value. (2) Fungicides. (3) Control.

*Table 7.* The number of viable rhizobium and "total" bacterium cells on the surface of vetch seeds treated with fungicides and inoculated with peat inocula. ( $10^3$ – $10^4$  dilutions). (1) Counting time after inoculation. (2) Fungicides. (3) Control. *a*) Mean values. Rh = the number of rhizobium cells in thousands/seed. x = the number of "total" bacterium on the surface of vetch seeds capable of growing on Congo red (YMA) medium; ten thousand/seed.

## L'effet de quelques fungicides sur *Rhizobium leguminosarum* I. Essais de laboratoire

M. KECSKÉS et J. M. VINCENT

Institut de Recherches Pédologiques et de Chimie Agricole de l'Académie des Sciences de Hongrie, Budapest  
et Département de Microbiologie Agricole, Université de Sydney, Sydney (Australie)

### Résumé

L'auteur a étudié au Département de Microbiologie de l'Université de Sydney, Australie, l'effet de 6 fungicides organiques appartenant à 5 groupes chimiques différents et d'un fungicide anorganique sur 7 souches de l'espèce *Rhizobium leguminosarum* isolées des nodules de diverses légumineuses provenant de divers continents.

Il a établi que le comportement des diverses souches envers les fungicides étudiés a été le même, il n'a pas observé de différence dans l'effet inhibiteur exercé par un certain fungicide sur les 7 souches.

Au point de vue méthodique l'auteur a trouvé que parmi les corps employés par lui pour imiter l'action des graines traitées, des disques de papier-filtre contenant „au surplus” le fungicide ont donné les résultats les plus reproductibles.

A l'état actuel de ses investigations l'auteur est arrivé à la conclusion que les fungicides contenant du mercure sont très toxiques au rhizobiums, cet effet a été accompagné

d'un fort effet léthal dans le cas du fongicide «Ceresan». Le moyen anorganique «Cuprox» s'est avéré médiocrement inhibitoire et médiocrement léthal, mais il a exercé un effet toxique spécial sur les souches de rhizobium étudiées.

Les 4 autres fongicides occupaient une place intermédiaire. Le chiffre de toxicité du moyen «Thiram» est le plus petit et ce qui est très important il n'était pas toxique envers les cellules de rhizobium placées sur les graines comme inoculateurs.

Selon ses recherches l'auteur est d'avis que c'est le moyen «Thiram» que l'on pourrait recommander, mais ce qui comporte le jugement définitif il faut attendre les résultats des expériences faites à la chambre claire, en serre et aux champs.

**Tableau 1. Fongicides.** (1) Groupes de fongicides et leurs signatures de laboratoire: a) composé cuprique (anorganique), b) composés mercuriques (organiques), c) carbamate (organique), d) phthalimide (organique), e) chinones (organiques). (2) Nom de fabrique. (3) Nom chimique et poids de la matière active %. (4) Formule structurale. (5) Solubilité à l'eau. (6) Origine.

**Tableau 2. Souches de bactéries** (espèces de *Rhizobium leguminosarum*) selon le *Manual of Determinative Bacteriology* de Bergey (1957). Toutes les souches forment des nodules sur les racines des plantes appartenant aux genres *Lathyrus*, *Pisum*, *Vicia* et *Lens* et assimilent de l'azote en symbiose. (1) Signature de laboratoire. (2) Numéro de la souche dans la collection de l'Université de Sydney. (3) Lieu de l'isolation et de l'origine.

**Tableau 3. Valeurs de la zone inhibitrice** (en mm) exercée par les graines de vesce traitées avec des fongicides sur plaque de gélose en fonction du temps. Les chiffres sont des valeurs moyennes des zones inhibitrices provoquées par les 7 souches sur 10—10 graines. Avec Thiram et Captan l'on a observé une inhibition légère (1,4 resp. 1,8 mm). (1) Graines: a) 1 mois après le traitement, b) 7 mois après le traitement, c) valeur moyenne. (2) Fongicides.

**Tableau 4. Zones inhibitrices des fongicides appliquées en surplus sur des disques de papier-filtre sur plaques de gélose** (mm). (1) Souches de bactéries. (2) Fongicides. (3) Valeurs moyennes des zones d'inhibition selon les souches. (4) Valeurs moyennes selon les fongicides.

**Tableau 5. Valeurs comparatives des zones d'inhibition obtenues avec des disques de papier-filtre contenant des dilutions de fongicides sur la souche no. 3 de *Rhizobium leguminosarum* et les souches 1—7, ainsi que sur *Thanetophorus cucumbris*** (mm). (1) Microorganismes. (2) Nombre des répétitions. (3) Fongicides. (4) Valeurs moyennes selon les microorganismes, a) différence. Remarque: Py, Sp: disques de papier-filtre contenant des dilutions décuplées, P, Ce, Co, T, C des dilutions centuplées.

**Tableau 6. Nombre des cellules viables de *Rhizobium*** (en milles) sur la surface des graines de vesce traitées avec des fongicides et ensemencées avec la matière d'ensemencement tourbeuse. (1) Temps écoulé après l'ensemencement; a) valeur moyenne. (2) Fongicide. (3) Contrôle.

**Tableau 7. Nombre des cellules viables de *Rhizobium* sur la surface des graines de vesce traitées avec le fongicide et ensemencées avec la matière d'ensemencement tourbeuse** ( $10^2$ — $10^4$  signifie les dilutions). (1) Temps écoulé depuis l'ensemencement. (2) Fongicides. (3) Contrôle: a) valeur moyenne. Rh = nombre des cellules de *Rhizobium* en milles rapporté à une graine. x = nombre total des bactéries sur les graines de vesce et capables de végéter sur le milieu au rouge congo (YMA) en dix milles rapporté à une graine.

## Влияния некоторых фунгицидов на *Rhizobium leguminosarum* sp.

### I. Лабораторные исследования

М. КЕЧКЕШ и Й. М. ВИНЦЕНТ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимия А. Н. Венгрии, Будапешт и Лаборатория Сельскохозяйственной Микробиологии Сиднейского Университета, Сидней (Австралия)

### Резюме

На кафедре Микробиологии Сиднейского Университета (Австралия) изучалось влияние шести органических и одного неорганического фунгицидов, принадлежащих к 5-ти различным химическим группам на семь штаммов, относящихся к *Rhizobium leguminosarum* sp., выделенных из клубеньков бобовых растений, обитающих на различных континентах.

Определили, что по отношению изученных фунгицидов штаммы, принадлежащие *Rhizobium leguminosarum* sp., ведут себя одинаково: один определенный фунгицид влияет одинаково на каждый из семи штаммов.

С методической точки зрения, диски из фильтровальной бумаги, содержащие в избытке фунгициды, оказались наиболее репродуцируемыми дубликатами протравленных семян.

На данной стадии исследований сделали вывод, что ртутьсодержащие фунгициды оказывают очень токсическое влияние на *Rh. leguminosarum* sp., а применение Ceresan оказало сильное летальное влияние.

Неорганический Cuprox показал себя умеренно тормозящим и умеренно летальным средством, но на изученные штаммы *Rh. leguminosarum* sp. оказывал своеобразное токсическое влияние.

Остальные четыре фунгицида в отношении их тормозящего влияния занимают среднее положение. Thiram оказывает самое незначительное токсическое влияние на штаммы *Rh. leguminosarum* sp. и, что самое главное, не оказывал летального влияния на клетки клубеньковых бактерий, вносимых на семена в качестве инокулянта.

Как и ожидалось, наиболее эффективным протравливающим средством оказался Thiram, но для окончательного вывода необходимо иметь данные по образованию клубеньков на корнях растений в опытах, проводимых в световых камерах, вегетационных домиках и в полевых условиях.

**Табл. 1.** Фунгициды. (1) Группа фунгицидов и их лабораторное обозначение: а) Соединения меди (неорганические). б) Ртутные соединения (органические). в) Карбамат (органический). г) Фтал-имид (органический). д) Хиноны (органические). (2) Фабричное наименование. (3) Химическое наименование и вес активного действующего вещества в %. (4) Структурная формула. (5) Растворимость в воде. (6) Происхождение.

**Табл. 2.** Штаммы бактерий *Rhizobium leguminosarum* sp. по Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1957) Все штаммы на корнях растений, относящихся к родам *Lathyrus*, *Pisum*, *Vicia*, *Lens* образуют клубеньки и в симбиозе с ними связывают азот. (1) Лабораторные обозначения. (2) Номер штамма в коллекции Сиднейского Университета. (3) Место происхождения и выделения.

**Табл. 3.** Зона торможения (в мм) на агаровой пластинке в зависимости от времени для 7-ми штаммов, которыми инокулировали семена вики, обработанные фунгицидами. Цифровые значения — средние значения для 7 штаммов по 10 обработанным семенам. у Thiram (1,4 мм) и Captan (1,8 мм) наблюдалось слабое тормозящее влияние. (1) Семена: а) Спустя один месяц после обработки. б) Спустя 7 месяцев после обработки. в) Средние значения. (2) Фунгициды.

**Табл. 4.** Зона торможения на агаровой пластинке (в мм) фунгицидов, вносимых в излишке на диск из фильтровальной бумаги. (1) Штаммы бактерий. (2) Фунгициды. (3) Средние значения зоны торможения по отдельным штаммам. а) Средние значения по фунгицидам.

**Табл. 5.** Данные сравнения зон торможения (в мм), полученных на дисках фильтровальной бумаги, содержащих различные разбавления суспензий фунгицидов, для штамма № 3 и 7 штаммов *Rhizobium leguminosarum* sp. а также для штамма *Thanetophora cucumeris*. (1) Микроорганизмы. (2) Число повторностей. (3) Фунгициды. (4) Средние значения по микроорганизмам. а) Разница. Замечание: диски, содержащие различные разбавления суспензий Р<sub>у</sub>, Sp: десятикратное разбавление, Р, Се, Со, Т, С: стократное разбавление.

**Табл. 6.** Количество жизнеспособных клеток клубеньковых бактерий (в тысячах) на поверхности семян вики, обработанных фунгицидами и инокулированных торфяным инокулятором. (1) Время после инокуляции. а) Средние значения. (2) Фунгициды. (3) Контроль.

**Табл. 7.** Число жизнеспособных клеток и общее число клубеньковых бактерий на поверхности семян вики, обработанных фунгицидами и инокулированных торфяным инокулятором ( $10^2$ — $10^4$  — обозначения разбавления). (1) Время после инокуляции. (2) Фунгициды. (3) Контроль. а) средние значения. Rh = число клеток клубеньковых бактерий в тысячах на один день. X = общее число бактерий в десятках тысяч в пересчете на одно зерно, находящихся на поверхности семян вики и способных развиваться на Конго-асном (УМА) питательном субстрате.